

ダイコン子葉のアスコルビン酸含量に及ぼす温度および光強度の影響

誌名	日本食品保蔵科学会誌
ISSN	13441213
巻/号	245
掲載ページ	p. 325-329
発行年月	1998年9月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



ダイコン子葉のアスコルビン酸含量に及ぼす 温度および光強度の影響

壇 和弘*・永田雅靖*・山下市二*

Effects of Temperature and Light Intensity on Ascorbic Acid Content in Cotyledons of Japanese Radish

DAN Kazuhiro*, NAGATA Masayasu* and YAMASHITA Ichiji*

*National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea,
Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries
Ano, Age, Mie 514-2392

The relationship between L-ascorbic acid (AsA) content in cotyledons of Japanese radish and temperature or light intensity during growth was investigated. Japanese radish seedlings were grown in the dark at 15, 20, 25, 30, or 35°C. The maximum rate of hypocotyl elongation occurred at 25°C treatment compared with other temperature treatments. However, lower temperatures led to higher maximum content of AsA in cotyledons on a fresh weight basis. At temperatures below 30°C, AsA content in cotyledons increased rapidly, reaching a maximum 3~5 days after sowing and subsequently declined. Japanese radish seedlings were grown under various light intensity conditions at 25°C. Illumination led to increase of AsA content in cotyledons. A linear relationship was observed between the AsA content and the logarithms of light intensity.

(Received May 6, 1998)

近年、健康志向の高まりのなかで、野菜に含まれる機能性成分が重要視されている。アスコルビン酸 (AsA) はヒトの生体内で還元物質として様々な代謝に関与しているが¹⁾、体内での合成が不可能であるため、食物から摂取する必要がある。AsAの摂取は主として野菜に依存していることから²⁾、本研究の目的は、野菜におけるAsAの変動要因についての知見を得ることとした。

筆者らは、これまで、栽培環境の制御が容易なダイコン芽ばえをモデル植物として用い、AsAの変動と外観品質との関係について調査した。その結果、ダイコン子葉の生長および老化過程で、子葉中のAsA含量は大きく変動し、AsAはダイコン子葉の脂質の過酸化抑制お

よびクロロフィルの保持に重要な役割を担っていることが推察された³⁾。

ここでは、発芽から生長過程のダイコン芽ばえにおいて、温度および光強度がAsA含量の変動に及ぼす影響を明らかにするとともに、AsAの代謝に関与すると考えられるAsAペルオキシダーゼの活性変化についても調査した。

実験方法

1. 植物材料

ダイコン (*Raphanus sativus* L. 品種；早生四十日) 種子は表面を10% (v/v) 次亜塩素酸ナトリウム水溶液 (有効塩素濃度0.5%) で15分間殺菌後、滅菌水で十分

*農林水産省野菜・茶業試験場 (〒514-2392 三重県安芸郡安濃町草生360)

にすすいだ。種子は寒天 (0.8% w/v) 上に播種した。なお、寒天には肥料等の養分は加えず、種子は水のみを与えて、グロースチャンパー (岩城硝子製, LIB-300型) 内で温度, 光条件を変えて育成した。光源には白色蛍光灯 (三菱電機製) を使用した。

2. AsAの定量

予備試験の結果, ダイコン子葉中のデヒドロアスコルビン酸は微量であった。このことから, 本実験では, AsA (還元型) のみを測定した。子葉中のAsAは5% (w/v) メタリン酸水溶液で抽出後, YASUI and HAYASHI⁴⁾の方法に準じ, 高速液体クロマトグラフで定量した。カラムはShim-pack SCR-102H (島津製作所, 300mm×8mm i.d.) を使用した。移動相として, 2mM過塩素酸水溶液を流量1ml/minで流し, 波長254nmで測定した。結果は, 分析数5点の平均値を新鮮重当たりで表した。

3. AsAペルオキシダーゼの測定

AsAペルオキシダーゼの測定は, 尼子・浅田⁵⁾の方法に準じて行った。すなわち, 子葉を1mM AsA, 1mM EDTAを含む50mMリン酸緩衝液 (pH7.0) とともに乳鉢で摩砕した。摩砕液は4重のガーゼで濾過し, 10,000×gで10分間遠心分離して, 上清液を得た。この上清液に20% (w/v) になるようにソルビトールを加え, これを粗酵素液とした。なお, 粗酵素液の調製は全て5℃で行った。酵素活性は, 1mM AsA, 0.5mM H₂O₂を含む50mMリン酸緩衝液 (pH7.0) に粗酵素液を加え, 反応液中におけるアスコルビン酸の酸化による290nmの吸光度の減少を25℃で30秒間測定して求めた。結果は, 分析数3点の平均値で表した。

結果および考察

1. 下胚軸の伸長および子葉中のAsA含量と生育温度との関係

温度15℃, 20℃, 25℃, 30℃, 35℃, 暗黒条件下で育成したダイコンの下胚軸長の変化をFig. 1に示した。下胚軸の伸長速度は25℃で育成したものが最も速く, 播種7日後にかけて急激に伸長した。実験終了時の10日後における下胚軸長は123.2mmであった。また, 20℃で育成したダイコンの下胚軸の伸長は, 播種6日後まで25℃で育成したものに比べわずかに遅かったが, 実験終了時には25℃で育成したものと同じ長さになった。

一方, 30℃で育成したダイコンは, 播種7日後以後, 下胚軸の伸長が停止し, 播種10日後の下胚軸長は106.6mmであった。15℃で育成したダイコンの下胚軸は, 播種10日後まで伸び続けた (播種10日後; 101.8mm)。

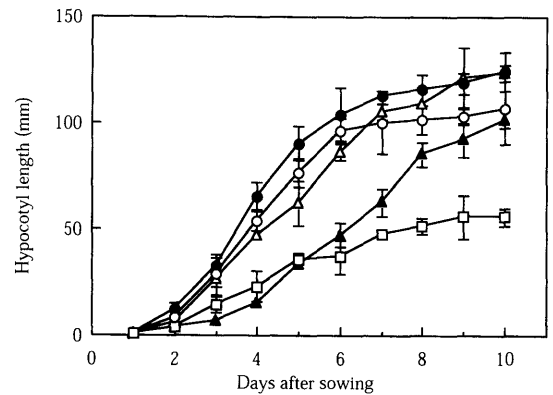


Fig.1 Changes in hypocotyl length during sprouting of Japanese radish. Seeds were grown for 10 days at various temperatures in the dark. Values are mean \pm SE for n=5.

▲, 15°C; △, 20°C; ●, 25°C; ○, 30°C; □, 35°C.

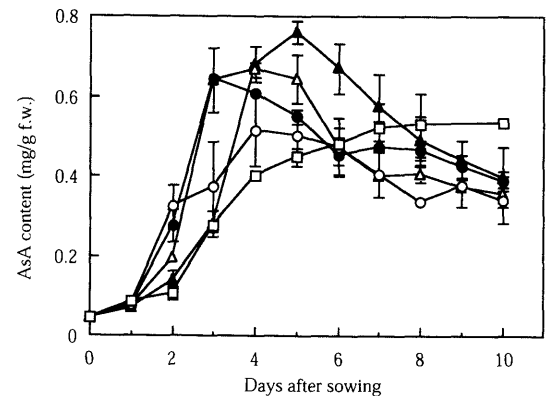


Fig.2 Changes in L-ascorbic acid content in cotyledons during sprouting of Japanese radish. Seeds were grown for 10 days at various temperatures in the dark. Values are mean \pm SE for n=5.

▲, 15°C; △, 20°C; ●, 25°C; ○, 30°C; □, 35°C.

35℃で育成したダイコンの下胚軸の伸長量は最も小さく, 播種10日後の下胚軸長は51.8mmであり, 25℃で育成したダイコン下胚軸長の約42%であった。

一般的なかいわれ大根の栽培方法は, 暗所で萌芽伸長させた後, ハウスに移して光量を加減しながら緑化, 生育させる。本実験において, 暗所での芽ばえの伸長を調査したところ, 下胚軸長がおよそ80mmを越えると下胚軸が屈曲する個体が多く認められるようになり, このような芽ばえに光を照射して子葉の緑化を行っても, かいわれ大根としての商品性は低いと思われた。このことから,

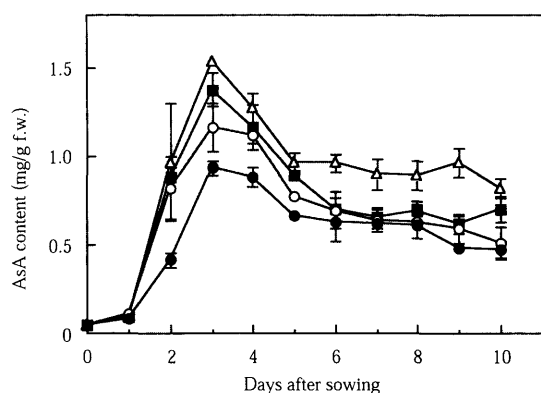


Fig.3 Changes in L-ascorbic acid content in cotyledons during sprouting of Japanese radish. Seeds were grown for 10 days under various light intensities provided by a fluorescent lamp at 25°C. Values are mean \pm SE for n=5.

●, $9\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; ○, $25\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$;
■, $47\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$; △, $145\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$.

20°C, 25°C および 30°C で育成したダイコンは、播種 3 ~ 4 日以後は、光が存在する環境下で緑化、生育させるのが適当と考えられる。一方、35°C や 15°C で育成したダイコンは生育の遅延が明らかであり、このような温度域で高品質のかいわれ大根を効率よく生産することは難しいと考えられる。特に、35°C では高温による生育異常が著しかった。

種子に含まれる AsA 含量は約 0.04mg/gf.w. で少なく、また、播種 1 日後までは大きな変化は認められなかった (Fig. 2)。20°C および 25°C で育成したダイコンは播種 1 日後から 3 日後にかけて急激に子葉中の AsA 含量が増加した。25°C で育成した子葉中の AsA 含量は 3 日後に最高値 (0.64mg/gf.w.) に達し、その後ゆるやかに低下した。20°C 育成の子葉中の AsA 含量は 3 日後から 4 日後にかけてわずかに上昇し、4 日後に最高値 (0.66mg/gf.w.) に達した後、ゆるやかに減少した。15°C 育成の子葉中の AsA 含量は 2 日後から 5 日後にかけて急増し、5 日後に最高値 (0.76mg/gf.w.) に達した後に減少した。15°C, 20°C, 25°C, 30°C で育成したダイコン子葉中の AsA 含量は、播種 10 日後には同程度になった。一方、35°C で育成したダイコン子葉中では、AsA 含量は実験終了時まで増加し続けた (実験終了時; 0.53mg/gf.w.)。

25°C 以下の試験区に比べ、30°C および 35°C の比較的高温の試験区では AsA 含量の最高値が低かった。種子の発芽時は、様々な代謝活性が活発化し、その代謝のエネルギー源は種子中の貯蔵物質で賄われる。呼吸活性は

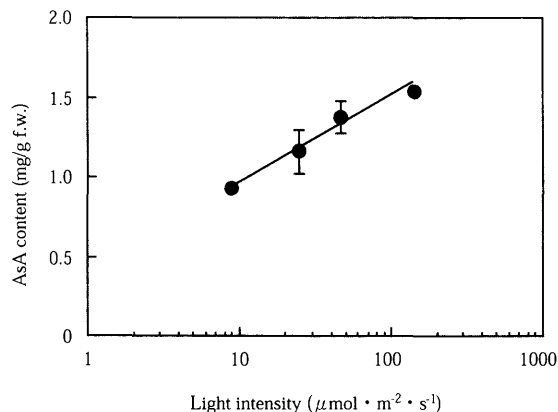


Fig.4 Relationship between L-ascorbic acid content in cotyledons and light intensity during sprouting of Japanese radish. Seeds were grown for 3 days under various light intensities provided by a fluorescent lamp at 25°C. Values are mean \pm SE for n=5.

温度が高いほど活発になることから、高温の試験区ではそれだけ貯蔵物質、特に糖質の消費も速いと考えられる。AsA の前駆物質は糖誘導体の L-ガラクトノ-γ-ラクトンである事から⁶⁾、高温区で AsA 含量が低下したのは、呼吸による種子中の糖質の消費と関連があるのかも知れない。

2. 子葉中の AsA 含量および AsA ペルオキシダーゼ活性と光強度との関係

生育温度は下胚軸の伸長が最も速かった 25°C とした。光の強度にかかわらず、子葉中の AsA 含量は播種 1 日後から 3 日後にかけて増加し、播種 3 日後に最高値に達した後に減少し、播種 5 日以後はほぼ一定であった (Fig. 3)。AsA 含量が最も高くなった播種 3 日後の子葉中の AsA 含量と光強度との関係を Fig. 4 に示した。子葉中の AsA 含量は光強度の対数に比例し、照射した光の強度が強いものほど子葉中の AsA 含量は多かった。暗所で育成したダイコン芽ばえに光を照射した後、比較的短い時間の AsA 含量の変化や AsA の子葉組織内分布の変化については、泉ら⁷⁾の研究がある。それによると、暗黒下で育成したダイコンに 0 ~ 10,000 lx の光を 24 時間照射すると子葉中の AsA 含量は照度が高い程増加する事が報告されている。我々が行った実験は、発芽後、光存在下で生育過程中的ダイコン芽ばえの AsA 含量の変化について調査したものではあるが、泉らの報告と同様に、光強度が強い環境下で育成したもののほど生育期間を

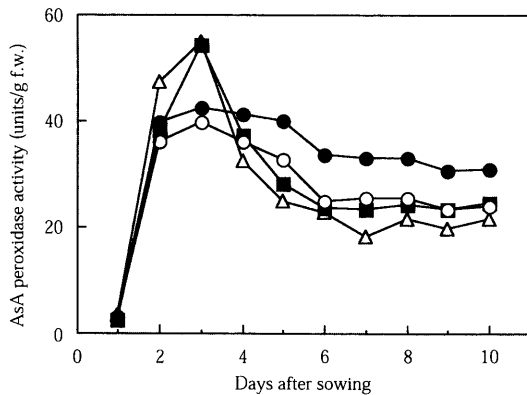


Fig.5 Changes in AsA peroxidase activity in cotyledons during sprouting of Japanese radish. Seeds were grown for 10 days under various light intensities provided by a fluorescent lamp at 25°C. Values are means for n=3. One unit of enzyme activity was defined as the amount of enzyme that oxidizes 1 μmol of L-ascorbic acid per min at 25°C.
 ●, 9 μmol·m⁻²·s⁻¹; ○, 25 μmol·m⁻²·s⁻¹;
 ■, 47 μmol·m⁻²·s⁻¹; △, 145 μmol·m⁻²·s⁻¹.

通して子葉中のAsA含量が高くなる傾向が認められた。

播種1日後のAsAペルオキシダーゼ活性はいずれの処理区においても低かったが、生長に伴って活性が増大した (Fig.5)。光強度が強い環境下で育成したダイコンは光強度が弱い環境下で育成したダイコンに比べ、活性の最大値が高くなるようであった。しかし、活性が最大を示した後、光強度が強い環境下で育成したダイコンほど活性の低下程度が著しく、播種5日後から実験終了時までには、光強度が強い環境下で育成したダイコンほどAsAペルオキシダーゼ活性は低く推移した。

植物におけるAsAの役割の一つとして、植物体内で発生する活性酸素の消去があげられる。特に、光合成器官である葉での重要な役割としては、光化学系反応で生成するスーパーオキシド (O₂⁻) の不均化反応で生じた過酸化水素からクロロプラストを保護する働きがある⁸⁾。クロロプラストでの過酸化水素は、AsAを電子供与体とし、AsAペルオキシダーゼによって消去される⁸⁾。このことから、光存在下で育成したダイコンの子葉においてAsA含量およびAsAペルオキシダーゼの活性変動は子葉の生長・老化と深くかかわっているものと考えられた。本実験において、光強度が強い環境下で育成したダイコンほど子葉中のAsA含量は多かった。植物体における活性酸素の生成は照射する光の強度が強いほど促進されると考えられることから、活性酸素に対する生体防御反

応の一つとしてAsA含量が高くなったものと考えられる。

AsAはL-ガラクトノ-γ-ラクトンを前駆物質とし、L-ガラクトノ-γ-ラクトンデヒドロゲナーゼによって生成される⁹⁾。このことから、今後は植物の生長・老化とAsA含量、L-ガラクトノ-γ-ラクトンデヒドロゲナーゼ活性の変化についても詳しく調査する必要があると思われる。一方、クロロプラストでの過酸化水素消去に機能していると考えられるAsAペルオキシダーゼの活性は、生長の初期 (播種3日後まで) では、光強度が強い環境下で育成したダイコンで高かったが、その後は光強度が強い環境下のダイコンほど活性は低くなった。光強度が強い環境下で育成したダイコンは活性酸素の消去のために、AsA含量やAsAペルオキシダーゼ活性が高く維持されると予想されたが、本実験では強光下で育成したダイコンの活性が終始高く維持されることはなく、AsA含量の変化とは違う挙動を示した。このことから、光強度とAsA酸含量およびAsAペルオキシダーゼ活性との関連を総合的に説明することは困難であった。ただし、本実験は水のみを与えた環境下で育成した場合の結果であり、肥料等を与えた条件下で育成した場合とは異なる結果になる事も考えられる。今後はこのような点をふまえ、さらに詳細な検討を行う必要がある。

本実験の結果より、ダイコン子葉中のAsA含量は生育温度および光条件により大きく変動することが明らかになり、温度や光といった環境要因を制御することで、ダイコン芽ばえのAsA含量を制御できる可能性が示唆された。本知見は、栽培環境制御が容易な、かいわれ大根等の作物における高品質生産技術の確立に寄与できるものと考えられる。

要 約

ダイコン子葉中のAsA含量に及ぼす温度および光条件との関係を調査した。15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 35°C, 暗黒条件下において、下胚軸の伸長速度は25°Cが最も速く、25°C以上あるいは25°C以下の温度域では下胚軸の伸長速度が低下した。しかし、子葉中のAsA含量の最高値は育成温度が低いほど高かった。30°C以下の温度域では、子葉中のAsA含量は播種後、数日間で急増し、最高値に達した後減少した。光を照射すると子葉中のAsA含量は増加し、AsA含量は光強度の対数に比例した。

文 献

- 1) 日本ビタミン学会編: ビタミンハンドブック2 水

- 溶性ビタミン (化学同人, 京都), p.171 (1989)
- 2) 日本施設園芸協会編: 野菜と健康の科学 (養賢堂, 東京), p.1 (1994)
- 3) DAN, K., NAGATA, M. and YAMASHITA, I.: *J. Japan. Soc. Hort. Sci.*, **65**, 603 (1996)
- 4) YASUI, Y. and HAYASHI, M.: *Anal. Sci.*, **7**, 125 (1991)
- 5) 尼子克己・浅田浩二: 活性酸素測定マニュアル, 浅田浩二・中野 稔・柿沼カツ子編 (講談社, 東京), p.218 (1992)
- 6) MAPSON, L. W., ISHERWOOD, F. A. and CHEN, Y. T.: *Biochem. J.*, **56**, 21 (1954)
- 7) 泉 秀実・辰巳保夫・邨田卓夫: 日食工誌, **31**, 704 (1984)
- 8) ASADA, K.: *Physiol. Plant.*, **85**, 235 (1992)
- 9) MAPSON, L. W. and BRESLOW, E.: *Biochem. J.*, **68**, 395 (1958)

(平成10年5月6日受理)